用体外产气法评价玉米秸秆、稻草、玉米秸秆青贮与精料的组合效应

韩肖敏[1]　曹玉凤[1]　李秋凤[1]　高艳霞[1]　李　妍[2]　李建国[1*]

（1.河北农业大学动物科技学院，保定　071001；2.河北农业大学动物医学院院，保定　071001）

摘　要：本试验旨在应用体外产气法研究玉米秸秆、稻草、玉米秸秆青贮与精料间的组合效应。采用单因素试验设计，进行 3 次组合筛选试验：首先进行玉米秸秆与稻草组合试验，筛选出最优玉米秸秆和稻草组合（玉米秸秆-稻草）比例；再进行玉米秸秆-稻草与玉米秸秆青贮组合试验，筛选出最优玉米秸秆-稻草和玉米秸秆青贮组合（玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮）比例；最后进行玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮与精料组合试验，筛选出最优玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮与精料组合比例。各组合均分别以 100.0:0、80.0:20.0、60.0:40.0、50.0:50.0、40.0:60.0、20.0:80.0、0:100.0 进行体外发酵试验，每个组合设 3 个重复。利用体外产气法分析不同饲料组合对 48 h 产气量、干物质消失率（DMD）、pH 及微生物蛋白（MCP）、氨态氮（NH_3-N）、挥发性脂肪酸（VFA）浓度的影响。计算各组合的单项组合效应指数（SFAEI）和多项组合效应指数（MFAEI）。结果表明：1）各饲料以不同比例组合对产气量均有显著或极显著影响（P<0.05 或 P<0.01），玉米秸秆∶稻草、玉米秸秆-玉米秸秆青贮∶玉米秸秆青贮、玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮∶精料产气量的 SFAEI 分别在 60.0:40.0、40.0:60.0、20.0:80.0 时达最大值；2）各饲料以不同比例组合对 DMD 也存在显著或极显著影响（P<0.05 或 P<0.01），玉米秸秆∶稻草、玉米秸秆-玉米秸秆青贮∶玉米秸秆青贮、玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮∶精料 DMD 的 SFAEI 分别在 50.0:50.0、40.0:60.0、20.0:80.0 时达最大值；3）不同玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮∶精料对 pH 有极显著影响（P<0.01）；4）各饲料以不同比例组合对 MCP 浓度也存在显著或极显著影响（P<0.05 或 P<0.01），玉米秸秆∶稻草、玉米秸秆-玉米秸秆青贮∶玉米秸秆青贮、玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮∶精料产气量的 SFAEI 分别在 80.0:20.0、40.0:60.0、20.0:80.0 时达最大值；5）各饲料以不同比例组合对 NH_3-N 浓度也存在显著或极显著影响（P<0.05 或 P<0.01），范围在 20.20~31.59 mg/dL；6）玉米秸秆

收稿日期：2016-07-12

基金项目：公益性行业（农业）科研专项经费（201503134）；河北省科技计划项目（16226604D）；国家现代农业产业技术体系建设专项资金

作者简介：韩肖敏（1989-），女，河北邯郸人，硕士研究生，从事反刍动物营养与饲料科学研究。E-mail: 1031307070@qq.com

*通信作者：李建国，教授，博士生导师，E-mail: jgliauh@sohu.com

与稻草组合的乙酸/丙酸和玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮与精料组合丁酸浓度在各比例间差异不显著（P>0.05），各饲料以不同比例组合对其余 VFA 和 TVFA 浓度也存在显著或极显著影响（P<0.05 或 P<0.01）。以 MFAEI 进行评定各饲料组合的最优比例如下：玉米秸秆与稻草为 60.0:40.0；玉米秸秆、稻草与玉米秸秆青贮为 24.0:16.0:60.0；玉米秸秆、稻草、玉米秸秆青贮与精料为 9.6:6.4:24.0:60.0。

关键词：玉米秸秆；稻草；玉米秸秆青贮；精料；组合效应

中图分类号：S816

我国农作物秸秆资源丰富，年产量可达 8.20 亿 t[1]，但资源利用程度较低，造成资源浪费[2]。作物秸秆因自身消化率低、可发酵氮源和过瘤胃蛋白质低、生葡萄糖物质低以及矿物质营养障碍，致使不能被反刍动物较好地利用[3]。因此，如何提高其饲用价值备受科技工作者和饲养者高度关注。国内外学者通过对秸秆的物理、化学及生物处理等研究，发现饲料的营养价值与饲料间的组合有关，当饲料间的互作使饲料中某种养分的利用率或采食量高于各饲料的加权值时说明组合产生了正组合效应[4-7]。利用饲料间的组合效应促进瘤胃发酵是提高稻草（RS）等秸秆类饲料利用率的重要措施之一[8-9]。

国内外已对 RS 与玉米淀粉、玉米青贮和苜蓿，豆秸、花生秧和青贮玉米秸，复合处理麦秸、青贮玉米秸和精料（CC）等饲料间两两组合效应进行了研究[10-14]，筛选出了正组合效应饲料组合。但对于玉米秸秆（CS）、RS、玉米秸秆青贮（CSS）及 CC 间的 4 种饲料间组合效应尚未见报道。本研究旨在结合饲料资源情况，研究 CS、RS、CSS 及 CC 以不同比例组合对体外产气及人工瘤胃发酵特性的影响，探究饲料间的适宜搭配比例，为反刍动物饲粮的配制和提高秸秆利用率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

CS、RS、CSS 及 CC 采自河北省保定市和承德市某牛场，经 65 ℃干燥制成风干样，粉碎过 20 目筛，密封保存以备用，3 种秸秆饲料的营养水平见表 1，CC 组成及营养水平见表 2。

表 1 玉米秸秆、稻草和玉米秸秆青贮的营养水平（干物质基础）

Table 1 Nutrient levels of corn stalk, rice straw and corn stalk silage (DM basis) %

项目 Items	粗蛋白质 CP	粗脂肪 EE	中性洗涤纤维 NDF	酸性洗涤纤维 ADF

玉米秸秆 CS	6.13	0.90	68.95	39.27
稻草 RS	3.60	1.24	65.77	38.86
玉米秸秆青贮 CSS	6.56	2.50	64.66	39.34

表2 精料组成及营养水平（干物质基础）

Table 2 Composition and nutrient levels of the concentrate (DM basis) %

项目 Items	含量 Content	营养水平 Nutrient levels	含量 Content
玉米 Corn	69.80	综合净能 NE_{mf}/（MJ/kg）	8.18
豆粕 Soybean meal	6.40	粗蛋白质 CP	16.24
棉籽粕 Cottonseed meal	6.00	中性洗涤纤维 NDF	15.97
干酒糟及其可溶物 DDGS	14.70	酸性洗涤纤维 ADF	6.09
石粉 Limestone	0.70	钙 Ca	0.56
预混料 Premix	0.60	磷 P	0.46
小苏打 $NaHCO_3$	1.20		
食盐 NaCl	0.60		
合计 Total	100.00		

综合净能为计算值[15]，其他营养水平为实测值。表 3 同。

NE_{mf} was a calculated value[15], while the other nutrient levels were measured value. The same as Table 3.

1.2 试验用瘤胃液供体动物

试验选择健康状况良好，体重约 550 kg 的装有永久性瘤胃瘘管的阉牛 3 头，每天饲喂全混合日粮（TMR）2 次，自由饮水。瘤胃液供体牛饲粮组成及营养水平见表 3。

表3 瘤胃液供体牛饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 3 Composition and nutrient levels of the diet of fistulated steers (DM basis) %

项目 Items	含量 Content	营养水平 Nutrient levels	含量 Content
玉米 Corn	41.88	综合净能 NE_{mf}/（MJ/kg）	6.75
豆粕 Soybean meal	3.86	粗蛋白质 CP	13.00
棉籽粕 Cottonseed meal	3.6	中性洗涤纤维 NDF	37.40
干酒糟及其可溶物 DDGS	8.85	酸性洗涤纤维 ADF	16.60
石粉 Limestone	0.44	钙 Ca	0.56
预混料 Premix	0.34	磷 P	0.40
小苏打 $NaHCO_3$	0.69		
食盐 NaCl	0.34		
玉米秸秆青贮 CSS	40.00		
合计 Total	100.00		

预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet：VA 4300 IU，VD_3 650 IU，VE 25 IU，Cu (as copper sulfate) 8 mg，Fe (as ferrous sulfate) 70 mg，Mn (as manganese sulfate) 40 mg，Zn (as zinc sulfate) 60mg，I (as potassium iodide) 0.5 mg，Se (as sodium selenite) 0.1 mg，Co（cobalt chloride）0.4 mg。

1.3 试验设计

采用单因素 7 水平试验设计。首先 CS 与 RS 进行组合，筛选出 CS 与 RS 的最优组合后再与 CSS 进行组合，进一步筛选出粗饲料最优组合再与 CC 进行组合。每个组合 3 个重复。饲料间不同的组合及比例见表 4。

表 4 饲料间不同的组合及比例

Table 4 Different combinations and proportions of feeds %

组合 Combinations	比例 Proportion						
玉米秸秆:稻草 CS:RS	100.0:0	80.0:20.0	60.0:40.0	50.0:50.0	40.0:60.0	20.0:80.0	0:100.0
玉米秸秆-稻草:玉米秸秆青贮 CS-RS:CSS	100.0:0	80.0:20.0	60.0:40.0	50.0:50.0	40.0:60.0	20.0:80.0	0:100.0
玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮:精料 CS-RS-CSS:CSS	100.0:0	80.0:20.0	60.0:40.0	50.0:50.0	40.0:60.0	20.0:80.0	0:100.0

1.4 人工瘤胃装置的准备及测定指标

1.4.1 人工瘤胃装置的准备

采用 ANKOM RFS 气体测量系统（美国 ANKOM technology corporation），该系统由压力传感器模块、250 mL 产气瓶、恒温培养箱和带特定软件的计算机等组成。该软件分为设置区、实时监控区和记录区 3 部分。监控区可以显示当前模块的状况，并且根据响应时间的变化而变化，记录区可以显示压力、绝对压力及电池容量的系统数据。该系统通过无线传输连接多个容器，反应出的气压信息可以在计算机的电子表格中记录，通过计算机交互界面记录发酵指标。

人工瘤胃缓冲液参照 Goering 等[16]的方法进行配制。取 520.2 mL 蒸馏水、0.1mL 微量元素溶液（A）、208.1 mL 缓冲溶液（B）、208.1 mL 常量元素溶液（C）和 1.0 mL 刃天青溶液（D），于具塞玻璃瓶中，持续充入 CO_2 气体，置于恒温水浴中预热至 39 ℃待用。临用前加入 62.4 mL 还原剂溶液（E）并继续充入 CO_2 气体，直至缓冲液从淡蓝色转变为近无色即可。

A、B、C、D、E 各溶液配制方法如下。

A：微量元素溶液，称取 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 13.2 g、$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 10.0 g、$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 1.0 g、$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 8.0 g 于烧杯中，加入蒸馏水溶解并定容至 1 000 mL。

B：缓冲溶液，称取 NH_4HCO_3 4.0 g、$NaHCO_3$ 35.0 g 于烧杯中，加入蒸馏水溶解并定容至 1 000 mL。

C：常量元素溶液，称取 Na_2HPO_4 5.7 g、KH_2PO_4 6.2 g、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 6 g 于烧杯中，加入蒸馏水溶解并定容至 1 000 mL。

D：刃天青溶液，0.1%（*m*/*V*），100.0 mg 刃天青蒸馏水溶解后定容至 100 mL。

E：还原剂溶液（现配现用），称取半胱氨酸盐酸盐 625.0 mg 溶解于 95 mL 蒸馏水中，然后再加入 1 mol/L NaOH 溶液 4 mL 和 $NaS_2 \cdot 9H_2O$ 625.0 mg，用蒸馏水定容至 100 mL。

在试验当天晨饲前采集供体阉牛瘤胃液 1 000 mL，置于预先通有 CO_2 的保温瓶中，立即盖严瓶口，迅速带回实验室。把供体阉牛的瘤胃液混合均匀后经 4 层纱布挤压过滤于接收瓶中，置于 39 ℃水浴中保存，并持续充入 CO_2 以确保瘤胃液处于厌氧环境。

首先准确称量发酵底物 1 g 放入 250 mL 产气瓶中，并将其置入 39 ℃恒温培养箱内预热 30～60 min。然后再把接收瓶内的瘤胃液与提前配制的人工瘤胃缓冲溶液以体积比 1:4 混合均匀后，准确量取 150 mL 混合液置于提前预热的每个产气瓶中（边操作边通入 CO_2），之后应继续向各个产气瓶通入 CO_2 2 min 以保证厌氧环境，之后立即拧紧各个产气瓶所对应的传感器模块。将各个培养瓶在（39.0±0.5）℃的水浴摇床中进行体外发酵 48 h，同时做空白试验。

1.4.2　饲料营养水平的测定

参照张丽英[17]饲料分析及饲料质量检测技术进行测定。粗蛋白质含量：采用凯氏定氮法，用丹麦 FOSS 凯氏定氮仪测定。粗脂肪含量：采用索氏浸提法，用索氏脂肪提取器测定。中性洗涤纤维（NDF）和酸性洗涤纤维（ADF）含量：采用范氏（Van Soest）分析法，用美国 ANKOM A2000i 全自动纤维仪测定。钙含量：采用高锰酸钾滴定法，使用的仪器设备包括电炉、马福炉、坩埚。磷含量：采用钼黄比色法，用 UV-2102 PCS 型紫外光可见分光光度计测定。

1.4.3　产气量的测定

用美国 ANKOM RFS 气体测量系统测定，该系统可以自动记录产气发酵瓶发酵产生的压力，由气压能转换成气体体积，根据理想气体方程，计算产气量：

$$Vx = VjPpsi \times 0.068\,004\,084。$$

式中:*V*x 为 39 ℃产气体积（mL）；*V*j 为产气瓶顶部空间体积（mL）；*P*psi 为气体测量系统自动记录的压力。

记录培养 2、4、8、12、24、36、48 h 的产气体积，由各自产气量以及气压进行校正，减去空白发酵瓶产气量即为产气量。

1.4.4　干物质消失率（DMD）的测定

在体外 48 h 发酵结束后，迅速将其放置碎冰中终止发酵，用已编号并称重的尼龙布（50 μm）过滤后，再经蒸馏水冲洗产气瓶数次直至干净，以确保产气瓶内无残留物，待瘤胃液过滤置于接受瓶中，然后将尼龙布小心无损地转移到烘箱中以 65 ℃烘 48 h 至恒重。

$$\text{DMD（\%）}=\frac{\text{放入发酵瓶前底物重(g)}-\text{终止发酵后残留底物重（g）}}{\text{放入发酵瓶前底物重(g)}}\times 100\text{。}$$

1.4.5　pH 测定

采用 UB-7 型酸度计测定。

1.4.6　氨态氮（NH_3-N）浓度测定

NH_3-N 浓度参照冯宗慈等[18]的比色法进行测定。取发酵后瘤胃液 10 mL 在 3 500~4 000 r/min 离心 10 min 后，量取 2 mL 上清液置于 15 mL 试管内，再加入 8 mL 0.2 mol/L HCl 摇匀，待测。用 UV-2102 PCS 型紫外光可见分光光度计测定。

1.4.7　微生物蛋白（MCP）浓度测定

MCP的分离采用差速离心法[19]。方法为：将发酵培养后瘤胃液经40～60 μm尼龙布过滤后，取25 mL于39 ℃、150×*g*离心15 min去除原虫和饲料大颗粒。之后准确量取20 mL上清液于4 ℃、16 000×*g*离心20 min以分离出细菌，弃去上清液后，用15 mL 0.85%生理盐水重复洗涤2次，沉淀即为细菌组分。最后将高速离心收集的沉淀小心无损的转移到消化管中，按凯氏定氮法，用丹麦FOSS凯氏定氮仪测定MCP浓度。

1.4.8　挥发性脂肪酸（VFA）浓度测定

VFA 浓度参照王加启[20]的气相色谱法进行测定。取发酵后瘤胃液 5 mL，在 10 000×*g* 离心 10 min，移取 1.5 mL 上清液至离心管中，加 0.15 mL 25%的偏磷酸，用涡流混合器摇匀，静止 30 min，在 10 000×*g* 下离心 15 min，取上清液供气相色谱仪测定。采用美国 Agilent 7890A 气相色谱仪测定。

1.4.9　组合效应指数的计算

单项组合效应指数（single factor associative effects index，SFAEI）与多项组合效应指数（multiple factors associative effects index，MFAEI）参照王旭所使用的方法计算[21]，具体公式如下：

加权估算值=一种饲料的实际测定值×所占比例+另一种饲料的实际测定值×所占比例；

SFAEI=（组合后实测值-加权估算值）/加权估算值；

MFAEI=∑单项组合效应值。

1.5　数据处理与分析

试验数据先经 Excel 2007 初步处理后，再使用 SPSS 19.0 软件的一般线性模型进行方差分析，并进行 Duncan 氏 SSR 法多重比较。结果用“平均值±标准差”表示。

2　结果与分析

2.1　CS 与 RS 的组合效应

2.1.1　不同比例组合对产气量的影响

由表 5 可知，CS 和 RS 以不同比例组合发酵结束后，其产气量是随培养时间的延长而增加，且在同一时间点的产气量是随 CS 比例的减少而减少。在各个时间点中，CS:RS 为 100.0:0 的产气量显著或极显著高于其他各比例（*P*<0.05 或 *P*<0.01）。发酵 48 h 时，产气量随着 RS 比例的增加而显著降低（*P*<0.01）。

表 5　CS 与 RS 不同组合比例对不同体外发酵时间产气量的影响

Table 5　Effects of different proportions of CS and RS on gas production at different *in vitro* fermentation time

mL/g

玉米秸秆:稻草 CS:RS	发酵时间 Fermentation time/h						
	2	4	8	12	24	36	48
100.0:0	27.71±0.63^{Aa}	45.09±0.27^{Aa}	73.44±0.11^{Aa}	86.60±1.13^{Aa}	122.38±1.02^{Aa}	150.36±0.49^{Aa}	152.30±0.51^{Aa}
80.0:20.0	25.70±0.37^{Bb}	41.14±0.66^{Bb}	69.94±0.26^{Bb}	80.86±0.78^{Bb}	112.85±0.77^{Bb}	141.69±0.47^{Bb}	144.64±0.72^{Bb}
60.0:40.0	24.75±0.33^{BCbc}	39.58±0.27^{Cc}	65.21±0.16^{Cc}	78.72±0.41^{Cc}	108.16±0.69^{Cc}	126.56±0.75^{Cc}	136.42±0.58^{Cc}
50.0:50.0	24.04±0.43^{Cc}	37.34±0.77^{Dd}	63.41±0.39^{Dd}	76.47±0.21^{Dd}	100.85±0.83^{Dd}	122.00±0.80^{Dd}	131.86±0.82^{Dd}
40.0:60.0	22.10±0.79^{Dd}	35.16±0.56^{Ee}	60.97±1.52^{Ee}	75.01±0.52^{DEe}	98.88±0.52^{Ee}	120.37±0.18^{Ee}	127.13±0.56^{Ee}
20.0:80.0	20.10±0.82^{Ee}	34.04±0.52^{EFf}	58.28±0.06^{Ff}	74.05±0.18^{Ee}	96.67±0.88^{Ff}	116.18±0.18^{Ff}	118.06±0.88^{Ff}
0:100.0	19.11±0.56^{Ee}	32.81±0.31^{Fg}	56.82±0.84^{Fg}	70.96±0.87^{Ff}	95.96±0.52^{Ff}	104.86±1.14^{Gg}	110.06±0.89^{Gg}
P 值 *P*-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），不同大写字母表示差异极显著（*P*<0.01），相同或无字母表示差异不显著（*P*>0.05）。下表同。

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference (*P*<0.05), and with different capital letter superscripts mean significant difference (*P*<0.01), while the same or no letter superscripts mean no significant difference (*P*>0.05).The same as below.

2.1.2 不同比例组合对发酵指标的影响

由表 6 可知，DMD 及 MCP、NH_3-N 浓度均随组合中 CS 比例的增加而增加，DMD 各组合间差异达显著或极显著水平（P<0.05 或 P<0.01），MCP、NH_3-N 浓度 100.0:0 与 80.0:20.0 组合间差异不显著（P>0.05），其余各组合间差异显著或极显著（P<0.05 或 P<0.01）。各组合的 pH 差异不显著（P>0.05），其值变化范围在 6.72~6.85。

表 6 不同 CS 与 RS 组合比例对体外培养 48 h DMD、pH 及 MCP、NH_3-N 浓度的影响

Table 6 Effects of different proportions of CS and RS on DMD, pH and concentrations of MCP and NH_3-N after fermented for 48 h *in vitro*

玉米秸秆:稻草 CS:RS	干物质消失率 DMD/%	pH	微生物蛋白 MCP/(mg/dL)	氨态氮 NH_3-N/(mg/dL)
100.0:0	62.41±0.56^{Aa}	6.85±0.14	39.58±0.72^{Aa}	31.59±1.45^{Aa}
80.0:20.0	60.57±1.00^{ABb}	6.74±0.06	38.13±0.63^{ABa}	30.00±1.10^{ABa}
60.0:40.0	58.27±1.13^{BCc}	6.72±0.16	35.84±1.30^{BCb}	27.48±0.95^{BCb}
50.0:50.0	57.32±0.88^{CDc}	6.76±0.14	34.17±1.57^{CDbc}	26.84±1.45^{BCbc}
40.0:60.0	55.09±0.30^{DEd}	6.81±0.03	32.50±1.08^{DEc}	24.63±0.95^{CDcd}
20.0:80.0	53.44±0.75^{EFd}	6.79±0.15	30.42±0.95^{EFd}	22.41±1.45^{DEde}
0:100.0	51.52±1.59^{Fe}	6.75±0.06	28.54±0.96^{Fd}	20.20±1.45^{Ee}
P 值 *P*-value	<0.001	0.859	0.001	<0.001

由表 7 可知，乙酸、丙酸、总挥发性脂肪酸（TVFA）浓度随 RS 比例的增加呈现先增加后降低的趋势，在 60.0:40.0 时达到最高值，分别为 55.30、38.97、104.90 mmol/L，TVFA 浓度显著或极显著高于其他组合（P<0.05 或 P<0.01）；丁酸浓度随 RS 比例的增加总体呈增加趋势，50.0:50.0 时达最高值 11.94 mmol/L；乙酸/丙酸，各组合间差异不显著（P>0.05）。

表 7 CS 与 RS 不同比例组合对体外培养 48 h 培养液 VFA 浓度的影响

Table 7 Effects of different proportions of CS and RS on VFA concentrations after fermented for 48 h *in vitro*

玉米秸秆:稻草 CS:RS	乙酸 Acetic acid/(mmol/L)	丙酸 Propionic acid/(mmol/L)	丁酸 Butyric acid/(mmol/L)	总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	乙酸/丙酸 Acetic acid/propionic acid
100.0:0	46.51±2.75^{BCc}	29.68±3.33^{BCDbcd}	8.59±1.39^{Bc}	84.78±1.18^{CDc}	1.58±0.24
80.0:20.0	52.26±2.41^{ABab}	33.03±3.72^{ABCbc}	8.45±0.57^{Bc}	93.75±5.45^{BCb}	1.59±0.16
60.0:40.0	55.30±2.51^{Aa}	38.97±2.95^{Aa}	10.63±0.54^{ABab}	104.90±4.62^{Aa}	1.43±0.12
50.0:50.0	49.83±4.27^{ABbc}	34.55±2.22^{ABab}	11.94±1.25^{Aa}	96.31±5.07^{ABb}	1.45±0.14
40.0:60.0	41.45±2.67^{CDd}	28.71±1.03^{BCDcd}	11.86±0.74^{Aa}	82.02±3.27^{DEc}	1.44±0.09
20.0:80.0	35.96±2.42^{DEe}	25.97±3.15^{CDde}	11.62±1.05^{Aab}	73.55±4.64^{EFd}	1.40±0.15
0:100.0	33.17±2.26^{Ee}	23.26±1.53^{De}	10.09±0.60^{ABbc}	66.52±2.11^{Fd}	1.43±0.19
P 值 *P*-value	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.632

2.1.3　CS 与 RS 的组合效应

由表 8 可知，以 SFAEI 评估各指标时发现，产气量、DMD、MCP、NH_3-N 均在 CS:RS 为 40.0:60.0、20.0:80.0 出现负组合效应，其余组合出现正组合效应；而 pH 则相反，在 CS:RS 为 40.0:60.0、20.0:80.0 出现正组合效应，最大值为 0.003 7；除丁酸在 80.0:20.0 时为负组合效应外，乙酸、丙酸和丁酸在各组合间均出现正组合效应。以 MFAEI 评定时发现，其效应值随 CS 比例的减少呈现先增加后降低的趋势，在 60.0:40.0 出现最值，因此最优 CS:RS 为 60.0:40.0。

表 8　CS 与 RS 的组合效应

Table 8　Associative effects of CS and RS

项目 Items		组合比例 Combination proportion				
		80.0:20.0	60.0:40.0	50.0:50.0	40.0:60.0	20.0:80.0
单项组合效应指数 SFAEI	产气量 GP	0.005 5	0.007 5	0.003 9	-0.061 1	-0.003 8
	干物质消失率 DMD	0.003 7	0.003 8	0.005 9	-0.013 7	-0.004 8
	pH	-0.012 0	-0.012 8	-0.004 7	0.002 8	0.003 7
	微生物蛋白 MCP	0.020 1	0.019 0	0.003 1	-0.075 8	-0.010 8
	氨态氮 NH_3-N	0.023 8	0.016 3	0.035 9	-0.007 7	-0.059 2
	乙酸 Acetic acid	0.192 0	0.343 0	0.250 7	0.076 4	0.003 5
	丙酸 Propionic acid	0.163 3	0.437 4	0.305 0	0.111 5	0.057 9
	丁酸 Butyric acid	-0.049 1	0.157 1	0.278 1	0.250 0	0.187 0
多项组合效应指数 MFAEI		0.347 3	0.971 2	0.878 0	0.282 4	0.173 6

2.2　CS−RS 与 CSS 的组合效应

2.2.1　不同比例组合对产气量的影响

由表 9 可知，产气量随底物发酵时间的延长而呈增加的趋势。不同 CS-RS:CSS 对不同时间点产气量有极显著影响（$P<0.01$）。随着 CSS 比例的增加，各时间点产气量先降低后略有升高。

表 9　CS−RS 与 CSS 的不同组合比例对不同体外发酵时间产气量的影响

Table 9　Effects of different proportions of CS−RS and CSS on gas production at different *in vitro* fermentation time　mL/g

玉米秸秆-稻草:玉米秸秆青贮 CS-RS:CSS	发酵时间 Fermentation time/h						
	2	4	8	12	24	36	48
100.0:0:0	20.05 ± 0.38^{BCcd}	33.53 ± 0.21^{ABb}	55.06 ± 0.57^{Aa}	73.95 ± 1.13^{Aa}	118.20 ± 1.81^{Aa}	142.45 ± 0.88^{Aa}	147.80 ± 0.37^{Aa}
80.0:20.0	19.89 ± 0.31^{BCef}	33.29 ± 0.46^{Bb}	52.09 ± 0.38^{Bc}	70.18 ± 0.89^{BCbc}	112.00 ± 1.22^{Bb}	131.84 ± 0.36^{Bb}	141.35 ± 1.02^{Bb}

60.0:40.0	19.67±0.65^{BCef}	32.17±0.43^{Cc}	51.97±0.00^{Bc}	69.54±0.21^{BCDcd}	110.50±2.24^{Bb}	129.09±1.72^{Cc}	137.04±0.67^{Cc}
50.0:50.0	18.93±0.64^{Cf}	32.06±0.44^{Cc}	51.07±0.57^{BCbc}	67.85±0.29^{CDde}	104.02±0.40^{CDd}	123.87±0.78^{Ee}	128.09±1.22^{De}
40.0:60.0	22.46±0.93^{Aa}	34.52±0.37^{Aa}	54.38±0.56^{Bb}	71.61±0.71^{ABb}	112.04±0.68^{Bb}	126.74±0.05^{Dd}	142.45±1.17^{Bb}
20.0:80.0	21.06±0.32^{Bb}	31.92±0.65^{CDc}	52.30±0.75^{Bc}	70.41±2.05^{BCbc}	107.16±0.59^{Cc}	123.94±0.62^{Ee}	134.92±1.03^{Cd}
0:100.0	20.97±0.19^{Bbc}	31.00±0.19^{Dd}	49.93±1.30^{Cd}	66.82±1.11^{De}	103.74±1.37^{Dd}	117.00±0.82^{Ff}	118.53±0.31^{Ef}
P 值 *P*-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

CS-RS 中这二者比例为 60.0:40.0。表 10、表 11、表 12 同。

The proportion in CS-RS was 60.0:40.0. The same as Table 10, Table 11 and Table 12.

2.2.2 不同比例组合对发酵指标的影响

由表 10 可知，不同 CS-RS∶CSS 对 DMD 及 MCP、NH_3-N 浓度有极显著影响（P<0.01）。随 CSS 比例的增加，DMD 降低，MCP 浓度则增加，NH_3-N 浓度呈现先下降后上升的趋势，其变化范围在 19.88~24.95 mg/dL。各组合间 pH 差异不显著（P>0.05）。

表 10 CS−RS 与 CSS 的不同组合比例对体外培养 48 h DMD、pH 及 MCP、NH_3-N 浓度的影响

Table 10 Effects of different proportions of CS∶RS and CSS on DMD, pH and concentrations of MCP and NH_3-N after fermented for 48 h *in vitro*

玉米秸秆-稻草:玉米秸秆青贮 CS-RS:CSS	干物质消失率 DMD/%	pH	微生物蛋白 MCP/(mg/dL)	氨态氮 NH_3-N/(mg/dL）
100.0:0	54.63±1.59^{Aa}	6.77±0.04	39.17±0.72^{De}	23.68±1.90^{ABabc}
80.0:20.0	51.59±1.78^{ABb}	6.81±0.05	41.25±1.08^{CDd}	21.78±0.95^{BCcd}
60.0:40.0	49.78±1.58^{BCbc}	6.80±0.04	42.08±0.72^{BCcd}	19.88±0.95^{Cd}
50.0:50.0	47.41±0.77^{Cc}	6.82±0.06	43.13±1.09^{ABCbc}	22.10±1.45^{ABCc}
40.0:60.0	48.95±2.13^{BCbc}	6.86±0.08	43.96±1.30^{ABab}	24.63±0.95^{ABab}
20.0:80.0	42.86±0.60^{Dd}	6.81±0.02	45.00±1.08^{Aa}	24.95±0.55^{Aa}
0:100.0	38.77±1.74^{Ee}	6.83±0.05	45.63±0.63^{Aa}	22.73±0.95^{ABCbc}
P 值 *P*-value	<0.001	0.573	<0.001	0.002

由表 11 可知，不同 CS-RS∶CSS 对 TVFA、各 VFA 浓度及乙酸/丙酸存在显著或极显著影响（P<0.05 或 P<0.01）。乙酸浓度在 CS-RS:CSS 为 0:100.0 时达到最大值（39.30 mmol/L），极显著高于为 50.0:50.0 时（P<0.01）；丙酸和 TVFA 浓度均在 60.0:40.0 出现最高值，分别为 34.05、82.96 mmol/L；丁酸浓度及乙酸/丙酸变化范围分别在 9.67~12.09 mmol/L 和 1.14~1.98。

表 11 CS−RS 与 CSS 的不同组合比例对体外培养 48 h 培养液 VFA 浓度的影响

Table 11 Effects of different proportions of CS−RS and CSS on VFA concentrations after fermented for 48 h *in vitro*

玉米秸秆-稻草:玉米秸秆青贮 CS-RS:CSS	乙酸 Acetic acid/(mmol/L)	丙酸 Propionic acid/(mmol/L)	丁酸 Butyric acid/(mmol/L)	总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	乙酸/丙酸 Acetic acid/propionic acid
100.0:0	35.58±1.44^{ABab}	28.88±1.68^{ABCb}	12.09±1.97^{Aa}	76.55±0.82^{ABb}	1.23±0.06^{Ccd}
80.0:20.0	37.80±2.01^{Aa}	31.21±1.65^{ABab}	11.13±1.38^{Aab}	80.14±3.51^{Aab}	1.21±0.02^{Ccd}
60.0:40.0	38.95±3.11^{Aa}	34.05±2.31^{Aa}	9.96±0.67^{Aab}	82.96±4.25^{Aa}	1.14±0.07^{Cd}
50.0:50.0	32.28±1.92^{Bb}	27.98±1.89^{BCDb}	9.87±1.23^{Ab}	70.12±0.70^{BCc}	1.16±0.15^{Cd}
40.0:60.0	36.06±2.44^{ABab}	24.22±1.66^{CDEc}	10.01±0.10^{Aab}	70.29±3.77^{BCc}	1.49±0.07^{BCbc}
20.0:80.0	37.44±1.96^{ABa}	22.83±2.47^{DEcd}	9.76±0.64^{Ab}	70.03±0.91^{BCc}	1.66±0.27^{ABb}
0:100.0	39.30±0.76^{Aa}	20.07±2.56^{Ed}	9.67±0.89^{Ab}	69.04±1.93^{Cc}	1.98±0.27^{Aa}
P 值 *P*-value	0.0140	<0.001	0.015	<0.001	<0.001

2.2.3 CS-RS 与 CSS 的组合效应

由表 12 可知，以 SFAEI 评定各指标时发现，产气量、NH_3-N 均在 40.0:60.0、20.0:80.0 出现正组合效应，其余比例为负组合效应；DMD、pH、MCP 以及丙酸在组合间均出现正组合效应，而丁酸均为负组合效应，乙酸在 80.0:20.0、60.0:40.0 出现正组合效应，其余比例为负组合效应。以 MFAEI 评定结果发现，在 40.0:60.0 出现最大值。因此，最优 CS-RS：CSS 为 40.0:60.0。

表 12　CS-RS 与 CSS 的组合效应

Table 12　Associative effects of CS-RS and CSS

项目 Items		组合比例 Combination proportion				
		80.0:20.0	60.0:40.0	50.0:50.0	40.0:60.0	20.0:80.0
单项组合效应指数 SFAEI	产气量 GP	-0.001 7	-0.290 3	-0.031 5	0.103 0	0.095 8
	干物质消失率 DMD	0.002 6	0.030 9	0.015 1	0.085 1	0.021 8
	pH	0.004 6	0.000 4	0.002 5	0.007 4	-0.000 7
	微生物蛋白 MCP	0.019 5	0.007 9	0.017 1	0.021 2	0.014 9
	氨态氮 NH_3-N	-0.072 8	-0.146 7	-0.047 7	0.065 7	0.088 3
	乙酸 Acetic acid	0.040 7	0.050 7	-0.138 0	-0.046 3	-0.029 0
	丙酸 Propionic acid	0.150 8	0.342 9	0.143 1	0.026 5	0.045 9
	丁酸 Butyric acid	-0.041 1	-0.104 9	-0.093 6	-0.059 9	-0.039 6
多项组合效应指数 MFAEI		0.102 6	-0.109 0	-0.133 1	0.202 8	0.197 5

2.3 CS-RS-CSS 与 CC 的组合效应

2.3.1 不同比例组合对产气量的影响

由表 13 可知，产气量随底物培养时间的延长而增加。就不同组合而言，同一发酵时间点的产气量均随 CC 比例的增加而增加，各组合间的差异极显著（P<0.01）。

表 13　CS-RS-CSS 与 CC 的不同组合比例对不同体外发酵时间产气量的影响

Table 13　Effects of different proportions of CS-RS-CSS and CC on gas production at different *in vitro* fermentation time　mL/g

玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮:精料 CS-RS-CSS:CC	发酵时间 Fermentation time/h						
	2	4	8	12	24	36	48
100.0:0	9.21±0.43^{Gg}	15.34±0.21^{Gg}	32.67±0.00^{Gg}	50.36±0.43^{Gg}	83.23±1.74^{Gg}	101.66±1.35^{Gg}	103.81±0.65^{Gg}
80.0:20.0	11.77±0.23^{Ff}	23.91±0.57^{Ff}	43.56±1.75^{Ff}	60.38±1.67^{Ff}	92.12±1.94^{Ff}	106.25±1.10^{Ff}	108.16±0.62^{Ff}
60.0:40.0	15.96±0.74^{Ee}	32.42±0.57^{Ee}	56.67±0.57^{Ee}	72.51±0.86^{Ee}	101.43±1.22^{Ee}	111.00±0.34^{Ee}	113.06±1.21^{Ee}
50.0:50.0	20.69±0.76^{Dd}	38.94±.38^{Dd}	64.78±0.65^{Dd}	77.76±1.67^{Dd}	106.91±1.00^{Dd}	115.98±0.54^{Dd}	117.65±0.92^{Dd}
40.0:60.0	23.35±0.40^{Cc}	43.62±0.56^{Cc}	72.39±1.49^{Cc}	86.69±0.94^{Cc}	115.44±0.38^{Cc}	130.33±1.13^{Cc}	134.14±1.50^{Cc}
20.0:80.0	29.27±1.24^{Bb}	52.61±1.20^{Bb}	84.17±1.25^{Bb}	107.96±1.81^{Bb}	141.53±1.33^{Bb}	144.68±0.89^{Bb}	145.43±0.78^{Bb}
0:100.0	33.90±0.57^{Aa}	60.26±1.07^{Aa}	94.53±1.83^{Aa}	115.40±0.70^{Aa}	149.69±1.92^{Aa}	151.64±0.86^{Aa}	152.60±0.71^{Aa}
P 值 *P*-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

CS-RS-CSS 中这三者比例为 24.0:16.0:60.0。表 14、表 15、表 16 同。

The proportion in CS-RS-CSS was 24.0:16.0:60.0. The same as Table 14, Table 15 and Table 16.

2.3.2　不同比例组合对发酵指标的影响

由表 14 可知，不同 CS-RS-CSS:CC 对 DMD、pH 及 MCP、NH_3-N 浓度存在极显著影响（$P<0.01$）。DMD 及 MCP、NH_3-N 浓度均随 CC 比例的增加而增加，其值变化范围分别为 62.78%～82.08%、30.42～43.55 mg/dL、21.78～27.48 mg/dL。而 pH 则随 CC 比例的增加而降低，变化范围在 6.57~6.80。

表 14　CS-RS-CSS 与 CC 的不同组合比例对体外培养 48 h DMD、pH 及 MCP、NH_3-N 浓度的影响

Table 14　Effects of different proportions of CS-RS-CSS and CC on DMD, pH and concentrations of MCP and NH_3-N after fermented for 48 h *in vitro*

玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮:精料 CS-RS-CSS:CC	干物质消失率 DMD/%	pH	微生物蛋白 MCP/(mg/dL)	氨态氮 NH_3-N/(mg/dL）
100.0:0	62.78±1.25^{Ef}	6.80±0.05^{Aa}	30.42±1.30^{De}	21.78±1.90^{Bb}
80.0:20.0	63.00±0.39^{Ef}	6.76±0.02^{ABab}	32.30±0.72^{CDde}	22.41±1.10^{Bb}
60.0:40.0	69.35±1.12^{De}	6.73±0.03^{ABCbc}	33.96±1.58^{Cd}	25.58±0.95^{Aa}
50.0:50.0	72.56±0.65^{Cd}	6.69±0.02^{BCcd}	36.67±0.72^{Bc}	27.79±1.09^{Aa}
40.0:60.0	76.46±1.31^{Bc}	6.66±0.04^{CDde}	38.75±1.25^{Bb}	25.90±1.45^{Aa}
20.0:80.0	78.65±0.54^{Bb}	6.61±0.03^{DEef}	41.67±0.95^{Aa}	27.16±0.55^{Aa}
0:100.0	82.08±1.02^{Aa}	6.57±0.03^{Ef}	43.55±0.72^{Aa}	27.48±0.95^{Aa}
P 值 *P*-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

由表 15 可知，不同 CS-RS-CSS:CC 对 TVFA、各 VFA 浓度及乙酸/丙酸存在显著或极显著影响

（P<0.05 或 P<0.01）。乙酸浓度、乙酸/丙酸均随 CC 比例的增加而降低；而丙酸浓度随 CC 比例的增加而增加，最高值为 29.82 mmol/L；各组合间的丁酸浓度差异不显著（P>0.05）；TVFA 浓度随 CC 比例的增加而降低，CS-RS-CSS:CC 为 100.0:0 时的 TVFA 浓度比 0:100.0 的提高了 9.08%（P>0.05）。

表 15　CS-RS-CSS 与 CC 的不同组合比例对体外培养 48 h 培养液 VFA 浓度的影响

Table 15　Effects of different proportions of CS-RS-CSS and CC on VFA concentrations after fermented for 48 h *in vitro*

玉米秸秆-稻草-玉米秸秆青贮:精料 CS-RS-CSS:CC	乙酸 Acetic acid/(mmol/L)	丙酸 Propionic acid/(mmol/L)	丁酸 Butyric acid/(mmol/L)	总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	乙酸/丙酸 Acetic acid/propionic acid
100.0:0	52.33±1.59^{Aa}	16.26±2.06^{De}	9.47±0.40	78.06±0.67^{Aa}	3.26±0.51^{Aa}
80.0:20.0	48.76±2.14^{ABab}	19.40±1.24^{CDd}	9.69±0.39	77.84±3.13^{Aa}	2.51±0.72^{Bb}
60.0:40.0	45.45±3.41^{BCbc}	22.90±1.77^{BCc}	9.43±0.57	77.78±1.99^{Aa}	2.00±0.30^{BCc}
50.0:50.0	42.24±2.70^{CDcd}	23.18±1.06^{BCc}	9.39±0.20	74.81±3.29^{Aab}	1.82±0.09^{CDcd}
40.0:60.0	39.23±1.06^{Dde}	25.29±1.05^{Bbc}	9.30±0.90	73.81±2.09^{Aab}	1.56±0.09^{CDEde}
20.0:80.0	37.13±2.10^{DEe}	26.66±0.86^{ABb}	9.13±0.53	72.91±2.83^{Aab}	1.39±0.04^{DEef}
0:100.0	32.49±2.44^{Ef}	29.82±1.99^{Aa}	8.67±0.53	70.97±4.42^{Ab}	1.09±0.05^{Ef}
P 值 *P*-value	<0.001	<0.001	0.042	0.047	<0.001

2.3.3　CS-RS-CSS 与 CC 的组合效应

由表 16 可知，以 SFAEI 评定各指标，产气量、MCP 在 40.0:60.0、20.0:80.0 出现正组合效应；pH、丙酸及丁酸在各组合间均为正组合效应；DMD 在 80.0:20.0、60.0:40.0，NH_3-N 在 80.0:20.0 出现负组合效应，其余比例均为正组合效应；乙酸 SFAEI 变化范围在-0.081 5~0.023 7。以 MFAEI 评定时发现，40.0:60.0 时出现最大值，为 0.111 6。因此，最优 CS-RS-CSS:CC 为 40.0:60.0。

表 16　CS-RS-CSS 与 CC 的组合效应

Table 16　Associative effects of CS-RS-CSS and CC

项目 Items		组合比例 Combination proportion				
		80.0:20.0	60.0:40.0	50.0:50.0	40.0:60.0	20.0:80.0
单项组合效应指数 SFAEI	产气量 GP	-0.047 6	-0.083 3	-0.082 4	0.007 9	0.018 1
	干物质消失率 DMD	-0.054 6	-0.016 3	0.001 8	0.022 4	0.005 5
	pH	0.000 4	0.003 3	0.001 2	0.000 2	-0.000 4
	微生物蛋白 MCP	-0.022 8	-0.047 9	-0.008 5	0.012 0	0.018 3
	氨态氮 NH_3-N	-0.022 1	0.063 1	0.128 4	0.027 5	0.031 1

乙酸 Acetic acid	0.008 2	0.023 7	-0.004 0	-0.029 7	-0.081 5
丙酸 Propionic acid	0.022 5	0.056 3	0.006 2	0.036 6	-0.016 4
丁酸 Butyric acid	0.040 6	0.031 3	0.035 7	0.034 6	0.033 4
多项组合效应指数 MFAEI	-0.075 4	0.030 1	0.078 6	0.111 6	0.008 2

3 讨 论

3.1 不同粗饲料与 CC 组合对产气量的影响

产气量大说明瘤胃微生物的活性高，对底物发酵越充分；若产气量低，则是因底物中可供微生物发酵产物不足所致[22]。本试验中，3 个不同饲料组合的产气量均随发酵时间的延长而成增加趋势，这与 Zerbini 等[23]研究结果基本一致。再者，CS 与 RS 组合、CS-RS-CSS 与 CC 组合中的产气量分别是随 CS、CC 比例的增加而增加；除 2、4 h 外，CS-RS 与 CSS 组合产气量均随 CSS 比例的增加而增加，原因可能是 CS、CSS 与 CC 含有易于发酵的底物，粗蛋白质含量相对较高，而 RS 自身粗蛋白质含量较低不足以供应微生物生长所需的氮源，进而导致其产气量随 RS 比例的增加而降低。这与 Zhang 等[24]研究 RS 与苜蓿干草组合效应结果类似，其产气量的增加均是因发酵底物含有相对较高的粗蛋白质含量，可提供充足的发酵底物所引起。

3.2 不同粗饲料与 CC 组合对体外发酵指标的影响

DMD 是表示反刍动物机体消化利用饲粮中有机物能力的指标。饲粮中的纤维含量是影响饲料降解性的关键因素[25]。本试验中不同饲料组合的 DMD 因底物组成成分的不同呈现出不同的规律，分别随 CS 比例的降低而降低，随 CSS 比例的增加呈现降低趋势，随 CC 比例的增加而增加。原因可能是因为 CS 比 RS 含有的纤维含量更适合瘤胃微生物的生长，CS 与 RS 组合又比单一 CSS 更有利于微生物发酵。从粗饲料与 CC 组合中，可以看出增加组合中 CC 比例提高了瘤胃微生物对饲料干物质的消化率，说明有利于微生物的生长。

pH 的高低是瘤胃能否正常发酵的关键性因素之一，保证瘤胃正常发酵所需的 pH 范围为 6~7[26]。试验中不同饲料组合的 pH 均在适宜的范围内，这与 Chen 等[27]研究饲料间组合效应的结果类似。

NH_3-N 浓度是合成 MCP 的主要限制性因素。在底物碳源充足情况下，适宜的 NH_3-N 浓度可以确保瘤胃微生物正常生长及繁殖。NH_3-N 浓度过高或过低均不适宜瘤胃微生物生长，其浓度过高会造成氮源浪费，浓度过低会降低瘤胃微生物活性，进而降低 MCP 的合成[28]。本试验中不同饲料组合的 NH_3-N 浓度为 19.88~31.59 mg/dL，在有关文献报道的范围内[29-30]，

这说明其浓度可以确保瘤胃微生物的正常生长，这与 Deli 等[31]研究结果一致。

MCP 合成的关键营养物质为能量和蛋白质，其浓度在一定程度上可表明瘤胃微生物种群数量的多少[22]，以此来反映瘤胃微生物生长繁殖的快慢及活性强弱。本试验中不同饲料组合的 MCP 浓度分别随 CS、CSS 及 CC 比例的增加而增加，分析其原因可能是这三者养分含量相比较其他饲料高，可为瘤胃微生物供应相对充足的营养源。

VFA 是反刍动物瘤胃代谢的重要组成部分，约占机体总能量需要量的 70%~80%，同时可反映瘤胃内微生物活性的强弱，它是瘤胃发酵的关键指标之一[32-33]。乙酸是机体乳脂合成的主要原料，丙酸是机体合成葡萄糖的前体，这就说明增加丙酸浓度可为机体供应所需的大部分能量，对于提高反刍动物的增重效率有重大意义。再者，VFA 组成成分的高低主要因饲粮内碳水化合物比例的差异所致，其数量和类型通过影响瘤胃内微生物的发酵环境进而影响 VFA 的浓度。本试验中不同饲料组合的乙酸浓度高于丙酸，究其原因可能是因反刍动物吸收 VFA 遵循丁酸、丙酸、乙酸的速度，瘤胃内 VFA 浓度的高低不因饲粮类型的差异而影响，这与 Copani 等[34]研究结果相一致。此外最优粗饲料与 CC 组合效应表明，乙酸浓度随 CC 比例的增加而降低，而丙酸浓度则相反，乙酸/丙酸降低。这与孙国强等[14]研究结果一致。原因也许是高 CC 饲粮改变了瘤胃液中微生物区系及培养底物的发酵模式。

3.3 不同粗饲料与 CC 组合对组合效应指数的影响

SFAEI 仅仅是从某一指标对饲料组合效应进行评定，难于对其做出较全面的评定；而 MFAEI 则是结合多个单项指标对饲料组合效应进行综合评定，其结果更具代表性。本试验中 CS 与 RS 的 MFAEI，各组合均呈正组合效应，比例为 60.0:40.0 时出现最大正组合效应；在最优 CS、RS 与 CSS 的 MFAEI，比例为 40.0:60.0 时出现最大正组合效应；而最优粗饲料与 CC 的 MFAEI，比例为 40.0:60.0 时出现最大正组合效应。出现上述正组合效应的结果，原因也许是不同饲料间以适宜比例组合后，其营养物质彼此相互作用进而提高了底物的整体发酵程度，最大化地提高饲料的消化利用率。这与于腾飞等[35]研究结果基本类似。

4 结 论

①CS 和 RS 最优组合比例为 60.0:40.0。

②CS、RS 与 CSS 的最优比例为 24.0:16.0:60.0。

③CS、RS、CSS 与 CC 的适宜比例为 9.6:6.4:24.0:60.0。

参考文献：

[1] 李珊珊,董海荣,李霞,等.河北省农作物秸秆利用现状及其影响因素分析[J].黑龙江畜牧兽医,2015(3):6–8.

[2] 孙世荣,郭祎,岳金权.我国稻草资源化利用现状及其评价[J].农业与技术,2015,35(17):20–23.

[3] 卢德勋.反刍动物营养调控理论及其应用[J].内蒙古畜牧科学,1993(特刊):99–105.

[4] 聂芙蓉,哈斯通拉嘎,刘庆华,等.生物处理秸秆饲料在反刍动物生产中的应用进展[J].中国草食动物科学,2016,36(1):56–58.

[5] LIU J P,JU M T,WU W T,et al.Lignocellulolytic enzyme production in solid-state fermentation of corn stalk with ammoniation pretreatment by *Lentinus edodes* L-8[J].Bioresources,2014,9(1):1430–1444.

[6] WANAPAT M,POLYORACH S,BOONNOP K,et al.Effects of treating rice straw with urea or urea and calcium hydroxide upon intake,digestibility,rumen fermentation and milk yield of dairy cows[J].Livestock Science,2009,125(2/3):238–243.

[7] 卢德勋.饲料的组合效应[M]//张子仪.中国饲料学.北京:中国农业出版社,2000.

[8] 胡发成,段军红.苜蓿草粉替代奶牛饲料中部分精料的效果试验[J].草业科学,2006,23(5):72–74.

[9] 夏先林,江萍,李时春,等.不同方式处理稻草和不同日粮组成育肥黄牛的饲养效果[J].草业科学,2003,20(6):30–32.

[10] ZHANG X D,WANG J K,CHEN W J,et al.Associative effects of supplementing rice straw-based diet with cornstarch on intake,digestion,rumen microbes and growth performance of *Huzhou* lambs[J].Animal Science Journal,2010,81(2):172–179.

[11] SUN P F,WU Y M,LIU J X.*In vitro* gas production technique to evaluate associative effects among lucerne hay,rice straw and maize silage[J].Journal of Animal and Feed Sciences,2007,16(Suppl.2):272–277.

[12] 张吉鹍,邹庆华,王金芬,等.稻草与多水平苜蓿混合瘤胃体外发酵组合效应的整体研究[J].饲料工业,2011,32(17):40–48.

[13] 袁翠林,于子洋,王文丹,等.豆秸、花生秧和青贮玉米秸间的组合效应研究[J].动物营养学

报,2015,27(2):647–654.

[14] 孙国强,吕永艳,蔡李逢,等.复合处理麦秸、青贮玉米秸和精料的组合及比例对奶牛体外瘤胃发酵的影响[J].动物营养学报,2013,25(1):69–76.

[15] 冯仰廉.肉牛营养需要和饲养标准[M].北京:中国农业大学出版社,2000:19–44.

[16] GOERING H K,VAN SOEST P J.Forage fiber analysis: apparatus,reagents,procedures,and some applications[M]//USDA-ARS agricultural handbook.Washington,D.C.:U.S.Government Printing Office,1970:379.

[17] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].2 版.北京:中国农业大学出版社,2003:45–79.

[18] 冯宗慈,高民.通过比色测定瘤胃液氨氮含量方法的改进[J].内蒙古畜牧科学,1993(4):40–41.

[19] COTTA M A,RUSSELL J B.Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture[J].Journal of Dairy Science,1982,65(2):226–234.

[20] 王加启.反刍动物营养学研究方法[M].北京:现代教育出版社,2011:139–141.

[21] 王旭.利用 GI 技术对粗饲料进行科学搭配及绵羊日粮配方系统优化技术的研究[D].硕士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2003.

[22] 雷冬至,金曙光,乌仁塔娜.用体外产气法评价不同粗饲料与相同精料间的组合效应[J].饲料工业,2009,30(3):30–33.

[23] ZERBINI E,KRISHAN C T,VICTOR X V A,et al.Composition and *in vitro* gas production of whole stems and cell walls of different genotypes of pearl millet and sorghum[J].Animal Feed Science and Technology,2002,98(1/2):73–85.

[24] ZHANG J K,LIU J X.Use of *in vitro* gas production to evaluate associative effects on gas production of rice straw supplemented with lucerne[J].Journal of Animal and Feed Science,2007,16(2):156–160.

[25] 薛红枫,孟庆翔.奶牛中性洗涤纤维营养研究进展[J].动物营养学报,2007,19(Suppl.1):454–458.

[26] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2004:136–138.

[27] CHEN W J,SUN P F,ZHANG X D,et al.Effect of nitrogen-energy balance on the associative effects of feedstuffs *in vitro*[J].Journal of Animal and Feed Sciences,2007,16(2):139–144.

[28] 刘哲,张昌吉,郝正里,等.饲喂含不同秸秆的全日粮颗粒料对绵羊瘤胃及血液代谢参数的影响[J].中国饲料,2005(11):12–14.

[29] 张吉鹍.粗饲料分级指数参数的模型化及粗饲料科学搭配的组合效应研究[D].博士学位论文.呼和浩特:内蒙古农业大学,2004.

[30] HOOVER W H.Chemical factors involved in ruminal fiber digestion[J].Journal of Dairy Science,1986,69(10):2755–2766.

[31] WANG D L,FANG J,XING F,et al.Alfalfa as a supplement of dried cornstalk diets:associative effects on intake,digestibility,nitrogen metabolisation,rumen environment and hematological parameters in sheep[J].Livestock Science,2008,113(1):87–97.

[32] KUNG L Jr,SHEPERD A C,SMAGALA A M,et al.The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration[J].Journal of Dairy Science,1988,81(5):1322–1330.

[33] VAN HOUTERT M.Challenging the retinal for altering VFA ratios in growing ruminates[J].Feed Mix,1996,4(1):514–525.

[34] COPANI G,GINANE C,LE MORVAN A,et al.Patterns of *in vitro* rumen fermentation of silage mixtures including sainfoin and red clover as bioactive legumes[J].Animal Feed Science and Technology,2015,208:220–224.

[35] 于腾飞,张杰杰,孙国强.花生蔓与 4 种粗饲料间组合效应的研究[J].动物营养学报,2012,24(7):1246–1254.

Associative Effects of Corn Stalk, Rice Straw, Corn Stalk Silage and Concentrate Evaluated by Gas Production Technique *in Vitro*[i]

HAN Xiaomin[1] CAO Yufeng[1] LI Qiufeng[1] GAO Yanxia[1] LI Yan[2] LI Jianguo[1]

(1. *College of Animal Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding* 071001, *China;* 2. *College of Veterinary Medicine, Hebei Agricultural University, Baoding* 071001, *China)*

Abstracts: This experiment was conducted to investigate the associative effects of corn stalk (CS),

rice straw (RS), corn stalk silage (CSS) and concentrate (CC). Single factor experiment was started with the screening for the optimal proportion of combination of CS and RS (CS-RS), which was subsequently recombined with CSS to screen the optimal proportion of combination of CS-RS and CSS (CS-RS-CSS), finally, CC was added to screen the optimal proportion of combination of CS-RS-CSS and CC. Every combination was tested *in vitro* with the proportions of 100.0:0, 80.0:20.0, 60.0:40.0, 50.0:50.0, 40.0:60.0, 20.0:80.0 and 0:100.0 with 3 replicates, respectively. *In vitro* gas production method was performed to analyze 48 h gas production, dry matter disappearance rate (DMD), pH, and the concentrations of microbial crude protein (MCP), ammonia nitrogen (NH_3-N) and volatile fat acids (VFAs), as well as to calculate single factor associative effects index (SFAEI) and multiply factors associative effects index (MFAEI). The results showed as follows: 1) feeds combined at different proportions had significant effects on gas production （P<0.05 or P<0.01）, and SFAEI of gas production for CS:RS, CS-RS:CSS and CS-RS-CSS:CC reached the biggest at the proportions of 60.0:40.0, 40.0:60.0 and 20.0:80.0, respectively; 2) feeds combined at different proportions had significant effects on DMD (P<0.05 or P<0.01), and the optimal proportions of CS:RS, CS-RS:CSS and CS-RS-CSS:CC were 50.0:50.0, 40.0:60.0 and 20.0:80.0 according to the SFAEI, respectively; 3) different proportions of CS-RS-CSS and CC had significant effects on pH (P<0.01); 4) feeds combined at different proportions had significant effects on MCP concentration (P<0.05 or P<0.01), and the optimal proportions of CS:RS, CS-RS:CSS and CS-RS-CSS:CC were 80.0:20.0, 40.0:60.0 and 20.0:80.0 according to the SFAEI, respectively; 5) feeds combined at different proportions had significant effects on NH_3-N concentration (P<0.05 or P<0.01) changing from 20.20 to 31.59 mg/dL; 6) there were no significant differences in acetic acid/propionic acid among different proportions of combinations of CS and RS, and in butyric concentration among different proportions of combinations of CS-RS-CSS and CC (P>0.05), and feeds combined at different proportions had significant effects on the rest VFA and TVFA concentrations (P<0.05 or P<0.01). Using MFAEI to assess the optimal results of associative effect, it is conclude that the optimal proportions are as follows: CS:RS is 60.0:40.0; CS:RS:CSS is 24.0:16.0:60.0; CS:RS:CSS:CC is 9.6:6.4:24.0:60.0.

Key words: corn stalk; rice straw; corn stalk silage; concentrate; associative effects

---

*Corresponding author, professor, E-mail: jgliauh@sohu.com （责任编辑　王智航）